



# UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

## TRABAJO FIN DE ESTUDIOS

Título

Control Microbiológico de la Fermentación Maloláctica de Vinos Tintos de la D.O.Ca. Rioja, realizada en Barrica de Roble

Autor/es

JUAN GARCÍA VALLE

Director/es

MARÍA FERNANDA RUIZ LARREA y MARÍA DEL ROCÍO FERNÁNDEZ PÉREZ ,

Facultad

Facultad de Ciencia y Tecnología

Titulación

Grado en Enología

Departamento

AGRICULTURA Y ALIMENTACIÓN

Curso académico

2017-18



***Control Microbiológico de la Fermentación Maloláctica de Vinos Tintos de la D.O.Ca. Rioja, realizada en Barrica de Roble,*** de JUAN GARCÍA VALLE (publicada por la Universidad de La Rioja) se difunde bajo una Licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported. Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los titulares del copyright.



# **UNIVERSIDAD DE LA RIOJA**

Facultad de Ciencia y Tecnología

## **TRABAJO FIN DE GRADO**

Grado en Enología

Control Microbiológico de la Fermentación  
Maloláctica de Vinos Tintos de la D.O.Ca. Rioja, realizada  
en Barrica de Roble

Microbiological Control of the Malolactic  
Fermentation in Oak Barrels, of Red Wines of the  
Appellation of Origin Rioja

Realizado por:

Juan García Valle

Tutelado por:

Dra. María Fernanda Ruiz Larrea

Dra. María del Rocío Fernández Pérez

**Logroño, julio, 2018**

## Agradecimientos

Mi vida ha ido evolucionando en base a las experiencias que he ido adquiriendo a lo largo de mis 31 años. Como buen Aries, soy emprendedor y me vuelco en mis proyectos con toda mi pasión. La enología hace que disfrute y exprima mis facultades en querer dedicarme a lo que me apasiona. Ser sincero y leal conmigo mismo ha sido piedra fundamental para conseguir mis objetivos académicos.

No puedo olvidarme de la importancia de mis raíces. Me siento orgulloso y afortunado de mis padres Paco y Loli. Me lo han dado todo desde que nací, y sin su educación no habría sido el mismo. Su apoyo incondicional, su amor, su perseverancia, su esfuerzo diario y su paciencia. Papá, ya hace dos años que un miserable cáncer me arrebató tu compañía, tu guía, tus conocimientos forjados con las experiencias de tu vida y quiero que sepas, que el mayor regalo que puedo hacerte es el fruto de mi trabajo. Mamá, te has dejado la piel, el dinero y has entendido siempre que, para continuar mi sueño, necesitaba “volar” y nunca podré llegar a agradecerte del todo, la mejor herencia que me dejas que es toda mi etapa académica. Mi hermana mayor, María, gracias por tu paciencia, por tu crítica, por espabalarme cuando lo he necesitado y por tu cariño. A mi hermano político Alberto, la voz que hace replantearme las cosas importantes de la vida y que es el hermano que no he tenido. A mi padrino, Luis, que siempre me has animado a continuar con lo que me proponía y me levantas la moral, cuando las cosas no salen bien. A mis familias, la del Cantábrico y la del Mediterráneo, que a su manera me han inculcado lo mejor de cada casa y el cariño que me profesan. Gracias familia, os quiero.

A mis amigos/as que me aguantan, son compañeros de fechorías divertidas, oídos de mis lamentos, los pilares en los que me apoyo y la chispa que me enciende. Por una vida entera juntos.

La docencia es la forma de transmitir los conocimientos que son indispensables para ser un buen profesional. Me siento agradecido por los profesores que he tenido en mi vida académica, primaria, secundaria y universitaria. A ti, mi profesor en la ITI Química Industrial, Salvador Cardona, te agradezco tu implicación en inculcarme que en la vida llevamos una mochila que llenamos con los conocimientos que vamos adquiriendo. Gracias Salva, eres el responsable de que nunca quiera dejar de aprender y cuestionarme las cosas.

Gracias al claustro de profesores/as de la titulación de Enología de la Universidad de La Rioja, mi admiración y gratitud por los conocimientos adquiridos.

A mis tutoras del Trabajo Final de Grado. A Fernanda porque lo que empezó siendo mi tutorización en las prácticas externas, se ha convertido en un trabajo apasionante, donde tu orientación y tu ayuda, ha sido imprescindible. A Rocío, por tu ayuda y acogida en el Instituto de las Ciencias de la Vid y el Vino. Gracias

A Vanesa Estepa, gracias por tu ayuda en el análisis microbiológico, tratamiento de los datos y consejos.

A Antonio Palacios, por ayudarme en la planificación del análisis sensorial y en el tratamiento de los datos obtenidos.

A mis compañeros de la titulación de Enología que participaron en el análisis sensorial y que además hemos compartido buenos momentos. Gracias

A la bodega Soto de Torres SAU, en la persona de Julio Carreter por su sabiduría y por permitirme realizar el experimental de mi TFG, poner a mi disposición el vino, las 9 barricas, patrocinarme los análisis químicos en la Casa del Vino, todo el material que he necesitado, y mantenerme el contrato hasta que finalicé el experimental. A Ángel Amurrio, enólogo y antiguo alumno de la titulación, por tu ayuda en la toma de muestras, el divertido trasiego de las barricas y tu buen hacer. Al resto de personal de bodega y administración, que siempre me ha ayudado, apoyado y que como uno más, me he sentido tratado. Gracias familia de Soto de Torres.

A las buenas gentes de Elche, Alcoy, Badajoz y los dominios de la D.O.Ca. Rioja que formáis parte de mi vida. Gracias por vuestro granito.

A Mecherito, mi Peugeot 307 que me ha llevado por esta bella tierra, recogiendo muestras en bodega, llevarlas al laboratorio y no dejándome tirado.

Gracias a todos vosotros ha sido posible la realización de este Trabajo Final de Grado. Gracias.

*"He aquí mi secreto: solo con el corazón se puede ver bien. Lo esencial es invisible a los ojos". Antoine de Saint-Exupéry 'El Principito'.*

## ÍNDICE

<b>Abreviaturas</b> .....	3
<b>Índice de Figuras</b> .....	4
<b>Índice de Tablas</b> .....	4
<b>Resumen</b> .....	6
<b>Abstract</b> .....	7
<b>Introducción</b> .....	8
<b>Objetivos</b> .....	10
<b>Material y Métodos</b> .....	10
Vinificación del vino tinto.....	10
<b>Fermentación Alcohólica</b> .....	10
<b>Fermentación Maloláctica</b> .....	14
<b>Crianza</b> .....	19
<b>Resultados y Discusión</b> .....	21
Análisis Químicos.....	21
<b>Seguimiento de la Fermentación Alcohólica</b> .....	21
<b>Seguimiento de la Fermentación Maloláctica y Crianza</b> .....	23
<b>Análisis de Parámetros Fisicoquímicos</b> .....	25
Análisis Microbiológico.....	26
Análisis Sensorial .....	29
<b>Fase Visual</b> .....	29
<b>Fase Olfativa</b> .....	31
<b>Fase Gustativa + Retronasal</b> .....	33
<b>Conclusiones</b> .....	35
<b>Bibliografía</b> .....	36

## Abreviaturas

%vol	Grado Alcohólico adquirido en % volumen
ACP	Análisis de Componentes Principales
ATT	Acidez Total en equivalentes de ácido tartárico
AV	Acidez Volátil en equivalentes de ácido acético
BAL	Bacterias Lácticas
CO <sub>2</sub>	Anhídrido carbónico
D.O.Ca.	Denominación de Origen Calificada
ENAC	Entidad Nacional de Acreditación
et al.	Y colaboradores
FOH	Fermentación Alcohólica
FML	Fermentación Maloláctica
g	Gramo
GAP	Grado Alcohólico Probable
hL	Hectolitro
IC	Intensidad Colorante
IPT	Índice de Polifenoles Totales
kg	Kilogramo
GAP	Grado Alcohólico Probable
G/F	Glucosa/Fructosa
L	Litro
mg	miligramo
MH2	Ácido Málico
mL	mililitro
NFA	Nitrógeno Fácilmente Asimilable
SO <sub>2</sub>	Anhídrido Sulfuroso

Tª	Temperatura
TFG	Trabajo Final de Grado
TH2	Ácido Tartárico
UFC	Unidades Formadoras de Colonias

## Índice de Figuras

**Figura 1:** Evolución de la concentración ácido málico (g/L) durante la FML.

**Figura 2:** Poblaciones de bacterias lácticas durante la FML y crianza de los vinos elaborados.

**Figura 3.1:** ACP fase visual.

**Figura 3.2:** Vinos y atributos ACP fase visual.

**Figura 4.1:** ACP fase olfativa.

**Figura 4.2:** Vinos y atributos ACP fase olfativa.

**Figura 5.1:** ACP fase gustativa + retronasal.

**Figura 5.2:** Vinos y atributos ACP fase gustativa + retronasal.

## Índice de Tablas

**Tabla 1:** Resultados del análisis inicial del mosto de la parcela de Baños de Ebro.

**Tabla 2:** Correcciones realizadas y nutrientes adicionados al vino durante la FOH.

**Tabla 3:** Operaciones de tecnología enológica realizadas.

**Tabla 4:** Resultados analíticos iniciales del mosto de la parcela de Tudelilla.

**Tabla 5:** Correcciones realizadas y nutrientes, adicionados al vino durante la FOH.

**Tabla 6:** Operaciones de tecnología enológica realizadas.

**Tabla 7:** Dosis de microoxigenación aplicada al vino ensamblado.

**Tabla 8:** Parámetros físico-químicos analizados y el método/técnica empleados.

**Tabla 9:** Muestreo realizado para análisis microbiológico durante la FML.

**Tabla 10:** Muestreo realizado para el análisis sensorial.



**Tabla 11:** Ficha análisis descriptivo método ISO 11035

**Tabla 12:** Correcciones realizadas con el vino crianza.

**Tabla 13:** Muestreo para el análisis microbiológico durante la crianza.

**Tabla 14:** Muestreo para el análisis sensorial.

**Tabla 15.1:** Densidades y temperaturas para el seguimiento de la FOH del vino de la parcela de Baños de Ebro.

**Tabla 15.2:** Resultados de los análisis del vino de la parcela de Baños de Ebro, durante la FOH.

**Tabla 16.1:** Densidades y temperaturas para el seguimiento de la FOH del vino de la parcela de Tudelilla.

**Tabla 16.2:** Resultados de los análisis del vino de la parcela de Tudelilla, durante la FOH.

**Tabla 17:** Resultados de los análisis del vino ensamblado (Baños de Ebro + Tudelilla) después de la FOH.

**Tabla 18:** Análisis concentración ácido málico (g/L).

**Tabla 19:** Parámetros fisicoquímicos analizados.

## Resumen

En este Trabajo Fin de Grado (TFG) se han elaborado vinos tintos de la D.O.Ca. Rioja de la variedad Tempranillo con uvas de la vendimia de 2017. El objetivo global de este trabajo fue elaborar y obtener unos vinos de calidad y con el carácter típico de estos vinos. Los objetivos específicos de este trabajo fueron: a) elaborar los vinos por el método tradicional, con fermentación maloláctica (FML) en barrica de madera de roble francés y posterior crianza; b) estudiar el impacto que puede ejercer el empleo de cultivos seleccionados de bacterias lácticas (BAL) iniciadoras de la FML sobre las características y atributos sensoriales de los vinos elaborados; c) monitorizar la evolución de los vinos elaborados, y especialmente su población bacteriana durante la FML y el periodo de crianza en barrica; y d) realizar el análisis sensorial de los vinos.

Se elaboraron tres tipos de vinos: vinos testigo (T) con FML espontánea debida a la propia microbiota endógena de los vinos, y dos tipos de vinos (L y S) cuya FML fue inducida con la adición de sendos inóculos comerciales iniciadores de la FML. Éstas se llevaron a cabo en barrica y se realizaron por triplicado. Se analizaron los parámetros físico-químicos de los vinos a lo largo de todo el proceso de elaboración, así como las poblaciones de BAL mediante el recuento en placa de colonias formadas en el medio de cultivo MRS específico para BAL. Finalmente, se realizó el análisis sensorial de los vinos elaborados.

Los resultados de este TFG han mostrado que los vinos tintos elaborados con adición de los cultivos iniciadores vieron favorecido el desarrollo de su FML, y los vinos testigo con FML espontánea presentaron un descenso más lento de su contenido en ácido málico. Asimismo se constató que las poblaciones de BAL en plena FML alcanzaron valores semejantes en los tres tipos de vinos elaborados, si bien los vinos inoculados S finalizaron la FML 6 días antes que los otros y al inicio de la crianza en barrica mantenían una población de BAL significativamente superior a la de los vinos testigo.

El análisis sensorial de los vinos elaborados puso de manifiesto que en la fase visual los vinos con las FML inducidas se diferenciaban entre si al final de la FML en la intensidad y brillo, si bien esas diferencias desaparecían con la crianza, y ambos se diferenciaron de los vinos con FML espontánea por su tonalidad y aspecto juvenil. En la fase olfativa, con la crianza se unificaron aromáticamente los tres tipos de vino elaborados, y los vinos adquirieron aromas típicos de la crianza en barrica de roble, con una gran carga de aromas a fruta fresca, florales y fruta madura. En la fase gustativa y retronasal los vinos con FML inducida se diferenciaban al final de su FML, e igual que en la fase olfativa, la crianza unificó el carácter de los vinos aportando aromas de madera, licoroso y sensaciones cálidas. Finalmente se puede concluir que los vinos elaborados presentaron en todos los casos las características deseadas de calidad y carácter del vino tinto Tempranillo de la D.O.Ca. Rioja.

**Palabras clave:** fermentación maloláctica, bacterias lácticas, cultivos iniciadores seleccionados, barrica de roble, análisis sensorial.

## Abstract

During this TFG, red Tempranillo varietal wines of Appellation of Origin Rioja were elaborated from grapes of the harvest 2017. The general objective of this work was to elaborate and to obtain premium wines with the typical Rioja character. Specific objectives of this work were: a) To elaborate wines following traditional methods, performing malolactic fermentation (MLF) in wooden barrels of French oak, and subsequent ageing; b) To study the impact of using selected MLF starters of lactic acid bacteria (LAB) on the characteristics and sensorial features of the elaborated wines; c) To monitor the evolution of the elaborated wines, and specially the bacterial population during MLF and the ageing period in barrels; d) To perform the sensorial analysis of the obtained wines.

Three types of wines were elaborated: control wines (T) with spontaneous MLF performed by the wine indigenous microbiota, and two types of wines (L and S) with induced MLF by commercial MLF starters. Fermentations were performed in triplicates in wooden barrels. Wine physical-chemical parameters were analysed along the elaboration process and LAB populations were measured by colony counting on MRS plates. Finally the sensorial analysis of the wines was performed.

The results of this TFG showed that the red wines elaborated with starters underwent a rapid MLF, whereas control wines with spontaneous MLF showed a slightly decelerated MLF. It was also shown that LAB populations during full MLF reached similar values for all the three types of wines. Wines inoculated with the S starter finished their MLF 6 days earlier than the other wines, and at the beginning of the ageing period they showed a higher LAB population than control wines.

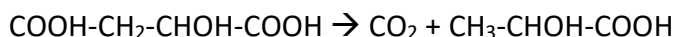
The sensorial analysis of the elaborated wines rendered the following results. In the visual phase, wines with induced MLF showed differences in intensity and brightness at the end of their MLF, and these differences disappeared along the ageing period. Both wines differentiated from control wines in their colour tonality and their young wine aspect. In the olfactory phase, the ageing process unified the aromatic characteristics of the three types of wines, and wines acquired typical oak aromas and showed fresh fruit, flower and ripen fruit aromas. In the tasting and retro-nasal phase, the MLF induced wines differentiated from each other at the end of MLF, and as in the olfactory phase, the ageing period unified their character and provided wooden and liquor aromas and warm sensations. Finally it can be concluded that in all cases the elaborated wines showed the desired premium wine characteristics and the typical character of Tempranillo red wines of Appellation of Origin Rioja.

**Key words:** malolactic fermentation, lactic acid bacteria, selected starters, oak barrel, sensorial analysis.

## Introducción

### La fermentación maloláctica de los vinos tintos

La fermentación maloláctica (FML) es la segunda fermentación del vino realizada por bacterias lácticas (BAL). Esta fermentación es importante en la elaboración del vino ya que desacidifica el vino, contribuye a la estabilidad microbiana y contribuye al aroma del vino a través de la producción de metabolitos secundarios que generan las BAL (du Toit, M. et al. 2011). La reacción global de la FML se escribe:



Esta reacción se traduce por una simple descarboxilación que explica la pérdida de un grupo ácido del málico. En la práctica, al pH del vino el ácido málico se encuentra en equilibrios iónicos de disociación y en forma de sus sales disociadas. Globalmente el fenómeno de la descarboxilación consiste en que cada vez que una molécula de ácido málico, bajo forma de ácido libre o de sal, es degradada, se produce la desaparición de una función libre ácida  $\text{COO}^-$ . La liberación de dióxido de carbono no es muy importante, sin embargo, es perfectamente perceptible en las bodegas cuando un vino, después la fermentación alcohólica (FOH) y del descube, se deja reposando en un depósito; puede ser el primer signo del desencadenamiento de una FML (Ribéreau-Gayon, P. et al. 2003).

Los cuatro géneros de BAL que fueron identificados como los principales organismos involucrados en la FML del vino, son: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* y *Pediococcus*. De todas las especies de BAL, *Oenococcus oeni* es probablemente la mejor adaptada para superar las duras condiciones ambientales del vino y por lo tanto representa la mayoría de los inóculos iniciales de FML comerciales (du Toit, M. et al. 2011).

El Tempranillo es la variedad más característica de la Denominación de Origen Calificada Rioja (D.O.Ca. Rioja), fundamento de la identidad de sus vinos tintos y una de las grandes variedades nobles del mundo. Ocupa más del 75% de la superficie de cultivo de viñedo en todo el territorio de la D.O.Ca. Rioja y es enológicamente muy versátil, capaz de producir vinos con largo envejecimiento, muy equilibrados en grado alcohólico, color y acidez, y con un paladar franco, suave y afrutado, que evoluciona a aterciopelado cuando envejece. Respecto a su comportamiento agronómico, es muy segura en el cuajado, muy sensible a plagas y enfermedades, poco resistente a la sequía y a temperaturas altas y, como su propio nombre indica, es “uva temprana” con ciclo corto de maduración. El grado de similitud entre los viñedos de las diferentes sinonimias con el Tempranillo de Rioja es ampelográficamente variable, desde la identidad prácticamente absoluta en el caso del Cencibel, Tinto de Madrid, Tinto del País y Tinto Fino, hasta grados de similitud más reducida en el caso del Tinto de Toro y Ull de Llebre. Actualmente el Tempranillo se encuentra muy difundido en España por su calidad reconocida, estando autorizado en 28 denominaciones de origen, 12 de las cuales lo consideran una de las variedades principales o preferentes (Consejo de la D.O.Ca. Rioja 2018).

## **La crianza del vino en barrica**

El envejecimiento del vino es una técnica comúnmente utilizada en las bodegas para aumentar la estabilidad de los vinos, aclararlos espontáneamente y lograr más aromas complejos. Normalmente se usan barriles de roble. La composición del vino en contacto directo con el barril se modifica a medida que el vino está en contacto con la madera tales como taninos, ácidos fenólicos y compuestos volátiles. Además, los elementos colorantes del vino se estabilizan debido a la microoxigenación producida cuando el aire fluye a través de las duelas de barril, aumentando la calidad del vino (Hernández-Orte et al. 2014).

En la actualidad se emplea la técnica de FML en barrica, con el objetivo de incrementar la cantidad de polisacáridos parietales de las levaduras lisadas, conocidos como manoproteínas, que comunican al vino una serie de importantes mejoras sensoriales y de estabilización del vino. Las manoproteínas aumentan la sensación de volumen o de cuerpo en los vinos, además de polimerizarse con los taninos de la uva o de la madera, reduciendo las sensaciones de aspereza o astringencia, y apareciendo matices aromáticos más fundidos y complejos, a menudo con tonos lácteos y torrefactos que recuerdan a los aromas de café con leche. Estos polisacáridos son capaces de secuestrar en su estructura tridimensional los aromas del vino, retrasando de este modo su desaparición. La autólisis de las levaduras cede al medio ésteres de ácidos grasos de aromas agradables, así como aminoácidos y ácidos nucleicos que se comportan como sustancias exaltadoras del sabor. Las interacciones de los taninos y los tioles son bien conocidas, permitiendo la presencia de elagitaninos cedidos por la madera de roble, reducir los compuestos azufrados del vino, siendo este efecto más patente cuando se utilizan barricas nuevas poco tostadas, donde el nivel de elagitaninos es más elevado y reaccionan con una mayor cantidad de compuestos generados por las lías (Hidalgo Togores, J. 2011)

## Objetivos

Los objetivos planteados para este Trabajo Fin de Grado fueron los siguientes:

- Elaborar vinos tintos de la D.O.Ca. Rioja de la variedad Tempranillo por el método tradicional, con fermentación maloláctica en barrica de madera de roble francés y posterior crianza.
- Estudiar el impacto que puede ejercer el empleo de cultivos seleccionados de bacterias lácticas iniciadoras de la fermentación maloláctica, sobre las características y atributos sensoriales de los vinos elaborados.
- Monitorizar la evolución de los vinos elaborados, y especialmente su población bacteriana durante la fermentación maloláctica y el periodo de crianza en barrica.
- Realizar el análisis sensorial de los vinos elaborados.

Y el objetivo global de este trabajo fue elaborar y obtener unos vinos tintos de la D.O.Ca. Rioja de calidad.

## Material y Métodos

### Vinificación del vino tinto

#### Fermentación Alcohólica

El vino utilizado para la realización de este Trabajo Fin de Grado (TFG), se elaboró en las dependencias de la bodega Soto de Torres SAU y procedía del ensamblaje de dos depósitos de fermentación de uva de la variedad Tempranillo procedente de una parcela de la localidad alavesa de Baños de Ebro y de otra parcela de la localidad riojana de Tudelilla.

La parcela de Baños de Ebro fue la primera que se vendimió. Se recogieron 17980 kg de uva, el día 19 de septiembre y 6560 kg, el día 21 de septiembre. Se realizó una vendimia manual y se utilizó un remolque para su transporte e introducción en bodega, mediante tolva. La uva se despalló mediante una despalladora mecánica y se encubó en el depósito, con una bomba peristáltica (Aleixandre et al. 2011). Se introdujeron un total de 24450 kg de uva, resultando 17178 L de mosto.

Se realizó una analítica inicial para determinar el estado del mosto:

**Tabla 1: Resultados del análisis inicial del mosto de la parcela de Baños de Ebro.**

ANALÍTICA INICIAL					
FECHA	GAP	pH	ATT	MH2	NFA
22-9-17	13,8	3,25	6,90	2,60	119

El día 21 de septiembre se realizó un sangrado de 1000 L de mosto, quedando un total final en el depósito de fermentación de 16178 L. A lo largo de la fermentación alcohólica (FOH), se realizaron una serie de correcciones y se adicionaron algunos nutrientes:

**Tabla 2: Correcciones realizadas y nutrientes adicionados al vino durante la FOH.**

CORRECCIONES Y NUTRIENTES		
FECHA	DESCRIPCIÓN	DOSIS
19-09-17	Tanino galico + SO <sub>2</sub>	20 g/100 kg
19-09-17	T.quebracho + galico + elagico	10 g/100 kg
21-09-17	Enzimas	2 g/100 kg
21-09-17	TH <sub>2</sub>	1,2 g/L
24-09-17	Levadura	20 g/hL
24-09-17	Protector de levadura	30 g/hL
25-09-17	Polisacarido	30 g/hL
25-09-17	Oxígeno alimentario	7 mg/L
26-09-17	Nutriente organico	15 g/hL
27-09-17	Tanino	10 g/hL
27-09-17	Nutriente complejo + corteza	15 g/hL
27-09-17	Oxígeno alimentario	4 mg/L
28-09-17	Tanino	10 g/hL

Se realizó el seguimiento de la FOH, mediante la medida de densidades y temperaturas y se realizaron las siguientes operaciones de tecnología enológica:

**Tabla 3: Operaciones de tecnología enológica realizadas.**

REMONTADOS			
FECHA	VOLUMEN	nº	COMENTARIO
21-09-17	1/3	1	Homogeneización+TH2+enzimas
22-09-17	Mojar sombrero	1	10 min. CO2 + mojar sombrero
23-09-17	Mojar sombrero	1	10 min. CO2 + mojar sombrero
24-09-17	1/3	1	Siembra + 20 min. Rmtdo. Cerrado
25-09-17	Mojar sombrero	1	10 min. CO2 + mojar sombrero
25-09-17	Osiris	1	Osiris por la tarde
26-09-17	Osiris	1	Osiris
26-09-17	Osiris	1	Osiris
27-09-17	Osiris	2	Mañana y tarde
28-09-17		1	Lias claros 10 minutos
29-09-17		1	Lias claros 10 minutos
30-09-17		1	Lias claros 10 minutos con aire
01-10-17		1	Lias claros 10 minutos

Se realizó el descube del depósito, el 29 de septiembre y todo el vino flor (sangrado) se trasegó a otro depósito, un total de 15500 L y se realizaron los análisis de siguientes parámetros del vino: acidez total en equivalentes de ácido tartárico, acidez volátil en equivalentes de ácido acético, intensidad colorante, pH, concentración de ácido málico y grado alcohólico adquirido, cuyos métodos de determinación analítica se indican en la Tabla 8.

La parcela de Tudelilla se vendimió más tarde. Se recogieron 12060 kg de uva tempranillo, el día 27 de septiembre y 12780 kg, el día 28 de septiembre. Se realizó una vendimia mecánica y se utilizó un remolque para su transporte e introducción en bodega, mediante tolva. La uva se despallilló mediante una despallilladora mecánica y se encubó en el depósito, con una bomba peristáltica (Aleixandre et al. 2011). Con lo que se introdujeron un total de 24840 kg de uva, resultando 17388 L de mosto.

Se realizó una analítica inicial para determinar el estado del mosto:

**Tabla 4: Resultados analíticos iniciales del mosto de la parcela de Tudelilla.**

ANALÍTICA INICIAL							
FECHA	HORA	GAP	pH	ATT	MH2	GLUC.	NFA
29-9-17		14,3	3,52	5,56	3,20		221

El día 29 de septiembre se realizó un sangrado de 1500 L de mosto, quedando un total final en el depósito de fermentación de 15888 L. A lo largo de la FOH, igual que en el caso anterior, se realizaron una serie de correcciones y se adicionaron algunos nutrientes:



**Tabla 5: Correcciones realizadas y nutrientes, adicionados al vino durante la FOH.**

CORRECCIONES Y NUTRIENTES		
FECHA	DESCRIPCIÓN	DOSIS
27-09-17	Tanino galico + SO <sub>2</sub>	20 g/100 kg
27-09-17	T.quebracho + galico + elagico	10 g/100 kg
29-09-17	Enzimas	2 g/100 kg
30-09-17	Levadura	20 g/hL
30-09-17	Protector de levadura	30 g/hL
01-10-17	Oxígeno alimentario	7 mg/L
02-10-17	TH <sub>2</sub>	1,2 g/L
02-10-17	Nutriente organico	15 g/hL
03-10-17	Polisacarido	30 g/hL
03-10-17	Oxígeno	7 mL/L
04-10-17	Tanino	10 g/hL
05-10-17	Oxígeno	2 mL/L

Se realizó el seguimiento de la FOH, mediante la medida de densidades y temperaturas y se realizaron las siguientes operaciones de tecnología enológica:

**Tabla 6: Operaciones de tecnología enológica realizadas.**

REMONTADOS			
FECHA	VOLUMEN	nº	COMENTARIO
29-09-17	1/3	1	Homogeneización+TH <sub>2</sub> +enzimas
30-09-17	1/3	1	Siembra + remontado cerrado 20 minutos
01-10-17	Osiris	2	mañana y tarde
02-10-17	1/3	1	Remontado cerrado 20 minutos
02-10-17	Osiris	1	osiris
03-10-17	1 1/3	1	Remontado cerrado 20 minutos
03-10-17	Osiris	1	osiris
04-10-17		1	Remontado cerrado 20 minutos

Se realizó el descube del depósito, el 5 de octubre y todo el vino flor (sangrado) se trasegó al mismo que el de Baños de Ebro, siendo un total de 15000 L. Las analíticas de control fueron las mismas que las realizadas para el vino anterior.

El sangrado de los dos depósitos de fermentación (Baños de Ebro y Tudelilla) quedó ensamblado en un único depósito. Finalizó la FOH, el 16 de octubre y al siguiente día se procedió a la microoxigenación:

**Tabla 7: Dosis microoxigenación aplicada al vino ensamblado.**

FECHA	PRODUCTO	DOSIS	COMENTARIOS
17/10/2017	Inicio O2	30 mL/L MES	TOTAL: 15,5 mL/L
30/10/2017	Cambio dosis	15 mL/L MES	
02/11/2017	Fin O2		
08/11/2017	Inicio O2	10 mL/L MES	
14/11/2017	Fin O2		

Se realizó un control analítico para comprobar que la FML no se iniciaba de manera espontánea y controlar ciertos parámetros fisicoquímicos: acidez total tartárica, acidez volátil acética, intensidad colorante, pH, concentración de ácido málico y grado alcohólico adquirido, cuyos métodos de determinación analítica se indican en la Tabla 8.

### Fermentación Maloláctica

El día 15 de noviembre se realizó un trasiego del vino a otro depósito de igual capacidad, para “limpiar el vino”. Para el seguimiento de FML en barrica de roble, se utilizaron 9 barricas de madera de roble francés AL-TM de la Tonnellerie Saury (225 litros). 3 barricas se utilizaron para la fermentación espontánea y se denominaron T1, T2 y T3. 3 barricas para el estudio del inóculo comercial Lactoenos® B7 Direct (Laffort, Bordeaux Cedex, Francia) nombrado con la letra L y se denominaron L1, L2 y L3; y por último 3 barricas para el estudio del inóculo comercial Uvaferm Alpha® (Lallemand Bio, Cánada) nombrado con la letra S y se denominaron S1, S2 y S3.

El día 15 de noviembre se llenaron las barricas T y L. Se procedió a la siembra del inóculo comercial L, de siembra directa con monodosis para cada barrica. Además, se realizó la siembra del inóculo comercial S, en el depósito y de ahí se llenaron las barricas S.

A lo largo de la FML, se procedió a la recogida de muestras en botellas (para análisis químicos y análisis sensorial) y en viales estériles (para análisis microbiológico), que se congelaron a -80 °C en el ICVV, para su posterior estudio.

### **Toma de muestras**

#### Análisis Químico

Para la toma de muestras, se utilizó un toma muestras de barrica por cada trío de barricas, para evitar contaminaciones cruzadas. Entre barrica y barrica del mismo trío, el toma muestras se limpiaba con agua y se homogenizaba con vino, antes de extraer la muestra.

Para los análisis químicos se utilizaron botellines de 137.5 mL, que se llevaban posteriormente a la Casa del Vino de Laguardia (Álava), (Acreditación nº 756/LE1606 (2015). ENAC), para su análisis.

**Tabla 8: Parámetros físico-químicos analizados y el método/técnica empleados.**

Determinación	Método/Técnica
Grado Alcohólico probable (%vol)	Refractométrico
Nitrógeno Fácilmente Asimilable	Valoración Acidométrica
Grado Alcohólico Adquirido (%vol)	PEA 006/Infrarrojo Cercano (NIR)
Acidez Total Tartárica (g/L)	PEA 007/Valoración Potenciométrica
pH	PEA 007/Potenciometría Automática
Acidez Volátil Acética (g/L)	PEA 009/Autoanalizador FCSA
Anhídrido Sulfuroso Libre (mg/L)	PEA 014/Autoanalizador FCSA
Azúcares Reductores (g/L)	PEA 018/Autoanalizador FCSA
Ácido L-málico (g/L)	PEA 020/Enzimático Automático
Intensidad Colorante (A420, A520, A620)	OIV-MA-AS2-07B/Espectrofotométrico
Índice de Polifenoles Totales (A280)	PEA 011/Espectrofotometría UV-V

#### Análisis Microbiológico

Para el análisis microbiológico, se recogieron muestras en viales Corning® 430897 de 50 ml. de Polipropileno estéril (RNAase-/DNase-free), utilizando el tomamuestras para cada trío de barricas, e igual que antes, lavando bien con agua y homogenizando en vino, antes de extraer la muestra. Posteriormente, los viales se congelaron a -80 °C para su posterior siembra en placa.

Para la siembra en placa se utilizó un medio de cultivo M.R.S. BROTH (Oxoid LTD. Basingstoke, Hampshire, Inglaterra) suplementado con Bacto™ Agar (BD, Becton, Dickinson and Company, Francia). Una vez disuelto, se autoclavó con calor húmedo a 121 °C durante 20 minutos. Se atemperó hasta aproximadamente 56 °C y se agregó Nistatina (200 mg/L, Acofarma Antibiotice SA, Terrassa, Barcelona, España) para evitar el crecimiento de hongos.

Para la siembra de cada muestra, se procedió a descongelar el vial correspondiente. Una vez descongelado, se homogenizó el contenido con un Vortex, se hicieron las diluciones apropiadas en solución salina estéril y se sembró cada placa, con la ayuda de un asa de siembra desechable y en una cámara de flujo laminar.

**Tabla 9: Muestreo realizado para análisis microbiológico durante la FML.**

Muestreo	Barrica	Vial	Fecha de recogida	Fecha de siembra en placa	Diluciones
Previo FML	-	Vo	15/11/2017	27/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
1. Inicio de la FML	T1	VT1t1	20/11/2017	19/03/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$ , $10^4$
2. Plena FML	T1	VT1t2	4/12/2017	24/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
3. Final FML	T1	VT1t3	14/12/2017	24/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
1. Inicio de la FML	T2	VT2t1	20/11/2017	19/03/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
2. Plena FML	T2	VT2t2	4/12/2017	24/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
3. Final FML	T2	VT2t3	14/12/2017	24/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
1. Inicio de la FML	T3	VT3t1	20/11/2017	27/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
2. Plena FML	T3	VT3t2	4/12/2017	27/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
3. Final FML	T3	VT3t3	14/12/2017	27/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
1. Inicio de la FML	L1	VL1t1	20/11/2017	5/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
2. Plena FML	L1	VL1t2	4/12/2017	4/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
3. Final FML	L1	VL1t3	14/12/2017	6/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
1. Inicio de la FML	L2	VL2t1	20/11/2017	5/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
2. Plena FML	L2	VL2t2	4/12/2017	4/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
3. Final FML	L2	VL2t3	14/12/2017	6/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
1. Inicio de la FML	L3	VL3t1	20/11/2017	13/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
2. Plena FML	L3	VL3t2	4/12/2017	13/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
3. Final FML	L3	VL3t3	14/12/2017	13/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
1. Inicio de la FML	S1	VS1t1	20/11/2017	5/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
2. Plena FML	S1	VS1t2	4/12/2017	4/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
3. Final FML	S1	VS1t3	14/12/2017	6/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
1. Inicio de la FML	S2	VS2t1	20/11/2017	5/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
2. Plena FML	S2	VS2t2	4/12/2017	4/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
3. Final FML	S2	VS2t3	14/12/2017	6/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
1. Inicio de la FML	S3	VS3t1	20/11/2017	13/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
2. Plena FML	S3	VS3t2	4/12/2017	13/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
3. Final FML	S3	VS3t3	14/12/2017	13/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$

Una vez sembrada cada placa, se introduce en una campana de anaerobiosis con AnaeroGen™ 2.5L (Oxoid LTD. Basingstoke, Hampshire, Inglaterra) para la generación de condiciones anaerobias. Posteriormente se introducía la campana en una estufa a 30 °C durante 10-14 días y se iba monitorizando el crecimiento de colonias, hasta que una vez vista su presencia, se extraían las muestras de la estufa y de la campana, para el recuento de las colonias.

Posteriormente se realizó un tratamiento estadístico con el programa Microsoft® Excel 365 y InfoStat® v. 2008 (grupo InfoStat, Argentina)

### Análisis Sensorial

Para el análisis sensorial, se recogieron muestras en botellas de 750 ml.

**Tabla 10: Muestreo realizado para el análisis sensorial.**

Botellas	Fecha de recogida
B1, B2, B3, B4, B5 vino post FOH	15/11/2017
BT1, BT2, BT3, BT4 vino T fin FML	18/12/2017
BL1, BL2, BL3, BL4 vino L fin FML	18/12/2017
BS1, BS2, BS3, BS4 vino S fin FML	18/12/2017

El análisis sensorial se realizó el 23 de abril del 2018 en la Sala de Análisis Sensorial del Complejo Científico Tecnológico de la Universidad de La Rioja. El panel de catadores estuvo compuesto de 15 personas expertas y relacionadas con la industria enológica. Se valoraron las características visuales, aromáticas y gustativas de los vinos, siguiendo la siguiente Ficha de Atributos Descriptivos para Vinos Tintos ISO 11035.

**Tabla 11: Ficha análisis descriptivo método ISO 11035.**

ANÁLISIS DESCRIPTIVO MÉTODO ISO11035							
FECHA							
Nombre del catador							
TIPO		<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;"> <b>PUNTUACIÓN</b>            Tacha con una X el valor que percibas:            0 equivale a ausencia            5 equivale a intensidad muy alta         </div>					
Vino Tinto							
DESCRIPTOR	DEFINICIÓN DE CONSENSO	Ref:					
<b>ASPECTO O FASE VISUAL</b>							
Tonalidad	De anaranjado a violeta	0	1	2	3	4	5
Intensidad	Cantidad de color y pigmentación	0	1	2	3	4	5
Limpidez	Transparencia o grado de claridad. Desde turbio a cristalino	0	1	2	3	4	5
Brillo	Vivacidad de color	0	1	2	3	4	5
<b>AROMAS O FASE OLFATIVA</b>							
Intensidad aromática	Grado de intensidad aromática a copa parada	0	1	2	3	4	5
Herbaceos	Vegetal, espárrago, musgo	0	1	2	3	4	5
Floral	Flores aromáticas	0	1	2	3	4	5
Plantas aromáticas	Te, tomillo, romero, labanda, menta	0	1	2	3	4	5
Fruta fresca	Fresa, ciruela, melocotón, frambuesa, casis	0	1	2	3	4	5
Fruta madura	Fruta negra, mermelada, compota, gominola	0	1	2	3	4	5
Fruta pasificada	Pasas, higos secos	0	1	2	3	4	5
Pastelería	Cre moso, crema, natillas, bollería, pastelería	0	1	2	3	4	5
Mantequilla	Margarina	0	1	2	3	4	5
Lácteos	Yogur th de frutas, queso fresco, leche	0	1	2	3	4	5
Vainilla	Canela, coco	0	1	2	3	4	5
Frutos secos	Avellana, almendras, piñón	0	1	2	3	4	5
Especias	Clavo, pimienta negra, cedro, tabaco	0	1	2	3	4	5
Torrefactos	Café, toffe, café molido	0	1	2	3	4	5
Roble	Madera de roble, ahumados, tostados	0	1	2	3	4	5
Balsámico	Eucalipto, mentolado, incienso	0	1	2	3	4	5
Químicos	Medicamento, caucho, neumático, petróleo	0	1	2	3	4	5
Animales	Aromas de cuero, animal, aromas positivos	0	1	2	3	4	5
Levadura	Cortaza de pan, pan horneado, pan caliente	0	1	2	3	4	5
Mineral	Pizarra, granito, gema, piedra pomez	0	1	2	3	4	5
Fenolados	Carácter "Brett", cuadra, establo, sudor de caballo	0	1	2	3	4	5
Reducción	Cerrado, aroma relacionado con la presencia de sulfuros	0	1	2	3	4	5
Oxidación	Manzana, acetaldehído, brandy, caramelo	0	1	2	3	4	5
<b>GUSTO Y TEXTURA</b>							
Dulce	Ataque dulce en boca	0	1	2	3	4	5
Graso	Glicérico, suave, sedosidad, acuoso, redondo, redondez	0	1	2	3	4	5
Fresco	Acidez positiva en paladar medio	0	1	2	3	4	5
Acido	Acidez en exceso	0	1	2	3	4	5
Amargo	Sensación final amarga de los taninos	0	1	2	3	4	5
Vegetal	Carácter verde, hierba,	0	1	2	3	4	5
Químico	Sensaciones químicas en boca	0	1	2	3	4	5
Astringencia	Sensación táctil de rugosidad y aspereza	0	1	2	3	4	5
Sequedad	Sensación táctil de sequedad y falta de enlívación	0	1	2	3	4	5
Duración	Tiempo con sensaciones gustativas en boca	0	1	2	3	4	5
Equilibrio	Armonía, entre el dulce, ácido, amargo y astringencia	0	1	2	3	4	5
<b>RETRONASAL</b>							
Afrutado	Afrutado de cualquier tipo, frutas	0	1	2	3	4	5
Láctico	Lácteos, leche, yogur th, queso fresco	0	1	2	3	4	5
Madera	Madera de roble, crianza en barrica	0	1	2	3	4	5
Licoroso	Recuerdos de brandy, caramelo, abierto	0	1	2	3	4	5
Reducido	Aromas azufrados en retronasal	0	1	2	3	4	5
Herbáceo	Recuerdos vegetales y herbáceos	0	1	2	3	4	5
Cálido	Alcohólico, percepción de calor	0	1	2	3	4	5
Complejo	Produce muchas percepciones diferenciables	0	1	2	3	4	5
Persistencia	Duración en el tiempo de la percepción retronasal	0	1	2	3	4	5

Firma del catador:

Posteriormente se realizó un tratamiento estadístico con el programa Microsoft® Excel 365.



## Crianza

Una vez finalizada la FML, el 14 de diciembre del 2017 se procedió al trasiego del vino de cada trio, a un depósito para su limpieza y eliminación de las lías. Se limpiaron las barricas con agua y se volvieron a llenar con el vino correspondiente. Una vez terminada la operación, se sulfitó con pastillas de bisulfito para barricas, que aportan 10 g de SO<sub>2</sub> por barrica (225 L). El tiempo de crianza comenzó el 14 de diciembre y se detuvo con la toma de la última muestra, el día 20 de abril del 2018, permaneciendo un total de 4 meses y 6 días. Durante este período se realizaron analíticas para el control del nivel de anhídrido sulfuroso libre presente en las barricas. Se realizó una nueva corrección el 13 de marzo del 2018, añadiendo pastillas monodosis para barrica, de 5g de SO<sub>2</sub> en todas las barricas con la excepción de que a T1 y L1, que se añadió, además, una pastilla de 2 g de SO<sub>2</sub>. Las pastillas utilizadas fueron OENOSTERYL® EFFERVESCENT (Laffort, Bordeaux Cedex, Francia).

**Tabla 12: Correcciones realizadas con el vino crianza.**

Barrica	Vino
T1	Vino T
T2	Vino T
T3	Vino T + pequeña fracción Vino S
L1	Vino L
L2	Vino L
L3	Vino L + pequeña fracción Vino S
S1	Vino S
S2	Vino S
S3	Vino S

### Análisis Químico

Para los análisis químicos realizados en el apartado de crianza, se utilizaron las mismas técnicas descritas en el apartado de FML, y se extrajeron las muestras de la misma forma.

### Análisis Microbiológico

Se utilizaron las mismas técnicas que en el apartado de FML. Se tomaron las muestras:

**Tabla 13: Muestreo para el análisis microbiológico durante la crianza.**

Muestreo	Barrica	Vial	Fecha de recogida	Fecha de siembra en placa	Diluciones
1. Inicio Crianza	T1	VT1c1	8/01/2018	11/05/2018	10 <sup>1</sup> , 10 <sup>2</sup> , 10 <sup>3</sup>
2. Media Crianza	T1	VT1c2	23/01/2018	11/05/2018	10 <sup>1</sup> , 10 <sup>2</sup> , 10 <sup>3</sup>
3. Final Crianza	T1	VT1c3	24/04/2018	27/04/2018	Directo, 10 <sup>1</sup> , 10 <sup>2</sup>
1. Inicio Crianza	T2	VT2c1	8/01/2018	11/05/2018	10 <sup>1</sup> , 10 <sup>2</sup> , 10 <sup>3</sup>
2. Media Crianza	T2	VT2c2	23/01/2018	11/05/2018	10 <sup>1</sup> , 10 <sup>2</sup> , 10 <sup>3</sup>

Muestreo	Barrica	Vial	Fecha de recogida	Fecha de siembra en placa	Diluciones
3. Final Crianza	T2	VT2c3	24/04/2018	27/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
1. Inicio Crianza	T3	VT3c1	8/01/2018	25/05/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
2. Media Crianza	T3	VT3c2	23/01/2018	25/05/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
3. Final Crianza	T3	VT3c3	24/04/2018	27/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
1. Inicio Crianza	L1	VL1c1	8/01/2018	20/04/2018	$10^1$ , $10^2$ , $10^3$
2. Media Crianza	L1	VL1c2	23/01/2018	20/04/2018	$10^1$ , $10^2$ , $10^3$
3. Final Crianza	L1	VL1c3	24/04/2018	27/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
1. Inicio Crianza	L2	VL2c1	8/01/2018	20/04/2018	$10^1$ , $10^2$ , $10^3$
2. Media Crianza	L2	VL2c2	23/01/2018	20/04/2018	$10^1$ , $10^2$ , $10^3$
3. Final Crianza	L2	VL2c3	24/04/2018	27/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
1. Inicio Crianza	L3	VL3c1	8/01/2018	25/05/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
2. Media Crianza	L3	VL3c2	23/01/2018	25/05/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
3. Final Crianza	L3	VL3c3	24/04/2018	27/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
1. Inicio Crianza	S1	VS1c1	8/01/2018	20/04/2018	$10^1$ , $10^2$ , $10^3$
2. Media Crianza	S1	VS1c2	23/01/2018	20/04/2018	$10^1$ , $10^2$ , $10^3$
3. Final Crianza	S1	VS1c3	24/04/2018	27/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
1. Inicio Crianza	S2	VS2c1	8/01/2018	20/04/2018	$10^1$ , $10^2$ , $10^3$
2. Media Crianza	S2	VS2c2	23/01/2018	20/04/2018	$10^1$ , $10^2$ , $10^3$
3. Final Crianza	S2	VS2c3	24/04/2018	27/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$
1. Inicio Crianza	S3	VS3c1	8/01/2018	25/05/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
2. Media Crianza	S3	VS3c2	23/01/2018	25/05/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$ , $10^3$
3. Final Crianza	S3	VS3c3	24/04/2018	27/04/2018	Directo, $10^1$ , $10^2$

### Análisis Sensorial

Para el análisis sensorial, se recogieron muestras, siguiendo la misma mecánica descrita en el apartado de FML y realizando el análisis sensorial de estas muestras en la misma sesión descrita anteriormente.

**Tabla 14: Muestreo para el análisis sensorial.**

Botellas	Fecha de recogida
BT1, BT2, BT3, BT4 vino T fin crianza	20/04/2018
BL1, BL2, BL3, BL4 vino L fin crianza	20/04/2018
BS1, BS2, BS3, BS4 vino S fin crianza	20/04/2018



## Resultados y Discusión

### Análisis Químicos

#### Seguimiento de la Fermentación Alcohólica

Los datos del seguimiento de la FOH, con las medidas de densidad y temperatura (Delanoë, D. et al. 2015), se muestran en la Tabla 15.1.

**Tabla 15.1: Densidades y temperaturas para el seguimiento de la FOH del vino de la parcela de Baños de Ebro.**

SEGUIMIENTO DE FOH			
FECHA	DIA	DENSIDAD	Tª
21-09-17	1	1.112,0	16,0
22-09-17	2	1.104,0	14,5
23-09-17	3	1.103,0	11,5
24-09-17	4	1.105,0	13,5
25-09-17	5	1.094,0	15,5
26-09-17	6	1.082,0	19,0
27-09-17	7	1.037,0	23,0
28-09-17	8	1.021,0	25,0
29-09-17	9	1.010,0	25,5
30-09-17	10	1.005,0	26,0
01-10-17	11	1.001,0	25,0
02-10-17	12	996,0	25,0
03-10-17	13	994,0	24,0

Como puede observarse en esta tabla, la duración de la FOH fue de 13 días.

**Tabla 15.2: Resultados de los análisis del vino de la parcela de Baños de Ebro, durante la FOH.**

SEGUIMIENTO ANALÍTICO								
FECHA	G/F	AV	ATT	IC	A280	pH	MH2	% VOL
28-09-17				23,4	63,00			
29-09-17				20	67,00			
03-10-17	4,80	0,30	7,50	17,2	69,00	3,50	2,30	13,97
04-10-17	2,30							

**Tabla 16.1: Densidades y temperaturas para el seguimiento de la FOH del vino de la parcela de Tudelilla.**

SEGUIMIENTO DE FOH			
FECHA	DIA	DENSIDAD	T <sup>a</sup>
29-09-17	1	1.103,0	15,0
30-09-17	2	1.097,0	17,0
01-10-17	3	1.080,0	21,0
02-10-17	4	1.037,0	24,5
03-10-17	5	1.021,0	24,5
04-10-17	6	1.010,0	24,5
05-10-17	7	1.005,0	24,0
06-10-17	8	1.000,0	24,0
07-10-17	9	996,0	24,0
08-10-17	10	997,0	23,0
09-10-17	11	995,0	22,0
10-10-17	12	994,0	22,0

Como puede observarse en la Tabla 16.1, la duración de la FOH del vino elaborado con uvas de la parcela de Tudelilla fue de 12 días.

**Tabla 16.2: Resultados de los análisis del vino de la parcela de Tudelilla, durante la FOH.**

SEGUIMIENTO ANALÍTICO								
FECHA	G/F	AV	ATT	IC	A280	pH	MH2	% VOL
03-10-17				30	54,00			
04-10-17				17	58,00			
05-10-17				18	64,00			
06-10-17				17	63,00			
09-10-17	2,70	0,37	7,36	16	62,00	3,61	2,80	14,62

**Tabla 17: Resultados de los análisis del vino ensamblado (Baños de Ebro + Tudelilla) después de la FOH.**

SEGUIMIENTO ANALÍTICO									
FECHA	LITROS	G/F	AV	ATT	A280	pH	MH2	% VOL	IC
17-10-17	30.000	1,50	0,37	7,16	66,00	3,57	2,50	14,44	16,80
19-10-17							2,50		
23-10-17							2,50		
27-10-17							2,50		
30-10-17							2,40		
07-11-17			0,39				2,50		
13-11-17			0,40				2,50		
16-11-17		1,30	0,38	7,11	66,00	3,57	2,30	14,52	18,54

Ambas fermentaciones alcohólicas de los vinos de Tempranillo de las dos parcelas siguieron una cinética normal, con un descenso de la densidad de 1100 a 994 g/L y temperaturas en torno a 25 °C. Se obtuvieron valores finales de pH (3.5-3.61) y acidez volátil (por debajo de 0.5 g/L en equivalentes de ácido acético) propios de la vinificación de tinto (Ribéreau-Gayon et al. 2003).

## Seguimiento de la Fermentación Maloláctica y Crianza

### Fermentación Maloláctica

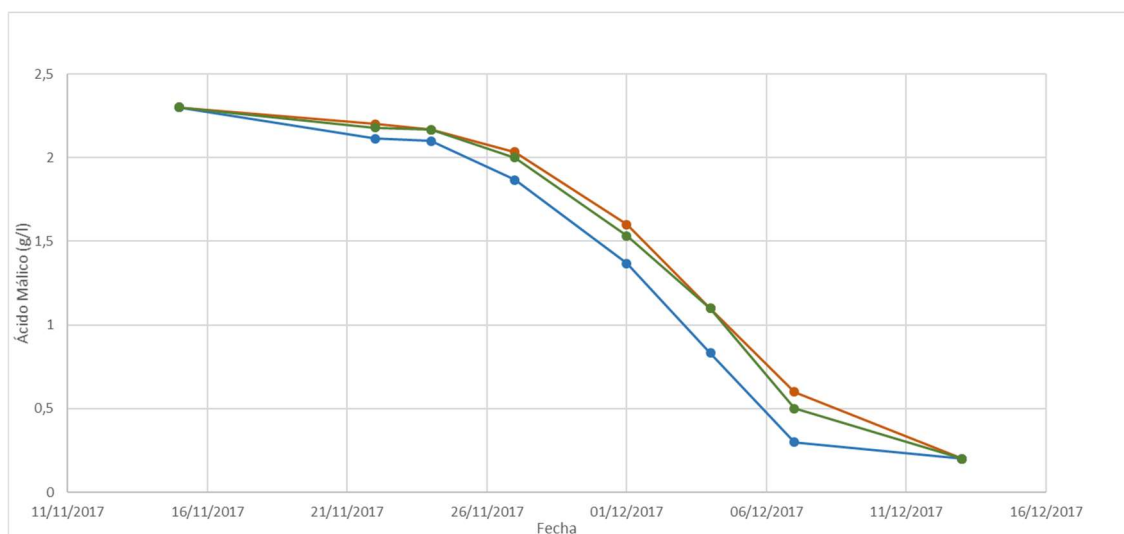
Los datos del seguimiento de la FML se muestran en la Tabla 18 que recoge la concentración de ácido málico a lo largo de los 21 días que duró la FML de los vinos T y L, y de 15 días para los vinos S.

EVOLUCIÓN ÁCIDO MÁLICO FML (g/L)															
FECHAS	BARRICAS														
	T1	T2	T3	ROMEDIO	DESV T	S1	S2	S3	ROMEDIO	DESV S	L1	L2	L3	ROMEDIO	DESV L
15/11/2017	2,30	2,30	2,30	2,30	0,00	2,30	2,30	2,30	2,30	0,00	2,30	2,30	2,30	2,30	0,00
22/11/2017 INICIO FML	2,19	2,20	2,21	2,20	0,01	1,98	2,09	2,27	2,11	0,15	2,20	2,30	2,04	2,18	0,13
24/11/2017	2,20	2,10	2,20	2,17	0,06	2,10	2,10	2,10	2,10	0,00	2,20	2,10	2,20	2,17	0,06
27/11/2017	2,00	2,00	2,10	2,03	0,06	1,80	1,90	1,90	1,87	0,06	2,00	2,00	2,00	2,00	0,00
01/12/2017	1,60	1,60	1,60	1,60	0,00	1,40	1,30	1,40	1,37	0,06	1,60	1,50	1,50	1,53	0,06
04/12/2017 PLENA FML	1,00	1,10	1,20	1,10	0,10	0,80	0,80	0,90	0,83	0,06	1,20	1,00	1,10	1,10	0,10
07/12/2017	0,60	0,60	0,60	0,60	0,00	0,30	0,30	0,30	0,30	0,00	0,50	0,50	0,50	0,50	0,00
13/12/2017 FIN FML	0,20	0,20	0,20	0,20	0,00	0,20	0,20	0,20	0,20	0,00	0,20	0,20	0,20	0,20	0,00

Tabla 18: Análisis concentración ácido málico (g/l).

Gráficamente se pudo comprobar el descenso de la concentración de ácido málico (g/l) durante la FML. En la Figura 1 se muestra la evolución del ácido málico en los tres tipos de vino T (testigo con FML espontánea), L (FML inducida con el inóculo comercial Lactoenos® B7 Direct) y S (FL inducida con el inóculo comercial Uvaferm Alpha®):

Figura 1: Evolución concentración ácido málico (g/L) durante la FML.



El color marrón representa al vino T de fermentación espontánea, el color verde al vino L con inóculo comercial y el color azul, al vino S con inóculo comercial. Cada punto corresponde a la media aritmética de los valores obtenidos en cada una de las tres barricas correspondientes a un mismo tipo de vino, donde se realizaban las FMLs.

Se puede observar que, en el caso del vino con la fermentación espontánea, el descenso es más lento y en caso de los dos vinos con inóculo comercial, se puede observar una evolución del descenso del ácido málico muy pareja entre ambos tipos de vinos con la FML inducida. Así mismo se puede ver en el penúltimo control, que la FML finalizó antes en los vinos con el inóculo comercial S, seguidos de los vinos inoculados con L, y finalmente en los vinos con fermentación espontánea. Estos resultados indican que el uso de cultivos iniciadores de la FML favorece el desarrollo de esta

fermentación y el control que el enólogo tiene de esta fermentación secundaria de los vinos, que es fundamental para obtener unos vinos de calidad y que puedan ser posteriormente sometidos al proceso de crianza (López et al., 2008).

## Análisis de Parámetros Fisicoquímicos

Se realizaron análisis completos de los parámetros fisicoquímicos más importantes para observar su evolución desde la finalización de la FOH, pasando por la finalización de la FML hasta el final de la crianza. Los resultados se muestran en la tabla siguiente.

**Tabla 19: Parámetros fisicoquímicos analizados.**

EVOLUCIÓN GRADO ALCOHÓLICO (%VOL)									
FECHAS	PROMEDIO T	DESV T	DIF. SIG	PROMEDIO S	DESV S	DIF. SIG	PROMEDIO L	DESV L	DIF. SIG
15/11/2017 Fin FOH	14,52	0,00	a	14,52	0,00	a	14,52	0,00	a
13/12/2017 Fin FML	14,52	0,02	a	14,50	0,01	a	14,50	0,01	a
20/04/2018 Fin Crianza	14,56	0,03	a	14,52	0,03	a	14,56	0,03	a
EVOLUCIÓN ACIDEZ TOTAL TARTÁRICA (g/L)									
FECHAS	PROMEDIO T	DESV T	DIF. SIG	PROMEDIO S	DESV S	DIF. SIG	PROMEDIO L	DESV L	DIF. SIG
15/11/2017 Fin FOH	7,11	0,00	a	7,11	0,00	a	7,11	0,00	a
13/12/2017 Fin FML	5,53	0,00	a	5,51	0,01	a	5,51	0,01	a
20/04/2018 Fin Crianza	5,03	0,02	a	5,06	0,02	a	5,06	0,02	a
EVOLUCIÓN pH									
FECHAS	PROMEDIO T	DESV T	DIF. SIG	PROMEDIO S	DESV S	DIF. SIG	PROMEDIO L	DESV L	DIF. SIG
15/11/2017 Fin FOH	3,57	0,00	a	3,57	0,00	a	3,57	0,00	a
13/12/2017 Fin FML	3,67	0,00	a	3,67	0,00	a	3,67	0,00	a
20/04/2018 Fin Crianza	3,69	0,01	a	3,70	0,01	a	3,70	0,01	a
EVOLUCIÓN ACIDEZ VOLÁTIL (g/L)									
FECHAS	PROMEDIO T	DESV T	DIF. SIG	PROMEDIO S	DESV S	DIF. SIG	PROMEDIO L	DESV L	DIF. SIG
15/11/2017 Fin FOH	0,38	0,00	a	0,38	0,00	a	0,38	0,00	a
13/12/2017 Fin FML	0,49	0,04	a	0,49	0,01	a	0,51	0,01	a
20/04/2018 Fin Crianza	0,51	0,01	a	0,51	0,02	a	0,51	0,02	a
EVOLUCIÓN ANHÍDRIDO SULFUROSO LIBRE (mg/L)									
FECHAS	PROMEDIO T	DESV T	DIF. SIG	PROMEDIO S	DESV S	DIF. SIG	PROMEDIO L	DESV L	DIF. SIG
15/11/2017 Fin FOH	0,00	0,00	a	0,00	0,00	a	0,00	0,00	a
13/12/2017 Fin FML	0,00	0,00	a	0,00	0,00	a	0,00	0,00	a
20/04/2018 Fin Crianza	28,00	1,73	a	28,00	1,00	a	28,00	2,00	a
EVOLUCIÓN AZÚCARES REDUCTORES (g/L)									
FECHAS	PROMEDIO T	DESV T	DIF. SIG	PROMEDIO S	DESV S	DIF. SIG	PROMEDIO L	DESV L	DIF. SIG
15/11/2017 Fin FOH	1,30	0,00	a	1,30	0,00	a	1,30	0,00	a
13/12/2017 Fin FML	1,40	0,00	a	1,37	0,06	a	1,37	0,06	a
20/04/2018 Fin Crianza	1,70	0,00	a	1,70	0,00	a	1,73	0,06	a
EVOLUCIÓN INTENSIDAD COLORANTE									
FECHAS	PROMEDIO T	DESV T	DIF. SIG	PROMEDIO S	DESV S	DIF. SIG	PROMEDIO L	DESV L	DIF. SIG
15/11/2017 Fin FOH	18,55	0,00	a	18,55	0,00	a	18,55	0,00	a
13/12/2017 Fin FML	16,44	0,08	a	16,76	0,09	a	16,44	0,10	a
20/04/2018 Fin Crianza	13,28	0,16	a	13,49	0,18	a	13,41	0,33	a
EVOLUCIÓN IPT									
FECHAS	PROMEDIO T	DESV T	DIF. SIG	PROMEDIO S	DESV S	DIF. SIG	PROMEDIO L	DESV L	DIF. SIG
15/11/2017 Fin FOH	66,00	0,00	a	66,00	0,00	a	66,00	0,00	a
13/12/2017 Fin FML	64,00	0,00	a	64,00	0,00	a	64,00	0,00	a
20/04/2018 Fin Crianza	63,33	0,58	a	64,00	0,00	a	63,67	0,58	a

Cada valor corresponde a la media aritmética y la desviación estándar de los triplicados de las muestras de vino. Letras distintas sobre los histogramas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores en el análisis ANOVA.

Se puede observar que, en el caso del grado alcohólico adquirido, éste se mantiene estable durante la FML. Respecto a la acidez total, se observa un descenso, debido a la degradación del málico, que se corresponde aproximadamente con la concentración de ácido málico inicial. El pH aumenta (aproximadamente 0.1 unidades), como se puede comprobar debido a la degradación del ácido málico y la formación del ácido láctico (Pozo-Bayón et al. 2005). Se ve un ligero aumento de la acidez volátil debido a la formación de pequeñas cantidades de ácido acético, debido a rutas secundarias de la FML (Moreno et al. 2010). Así mismo, se puede comprobar que la concentración del anhídrido sulfuroso libre está por debajo del umbral de detección, al finalizar las dos fermentaciones.

Se destaca la bajada de la intensidad colorante al final de la FML y de la crianza. Esto es debido al aumento del pH, que produce la decoloración de antocianos, procesos de precipitación y adsorción de antocianos por las células de las bacterias (Ribéreau-Gayon et al., 2003). El índice de polifenoles totales se mantiene constante.

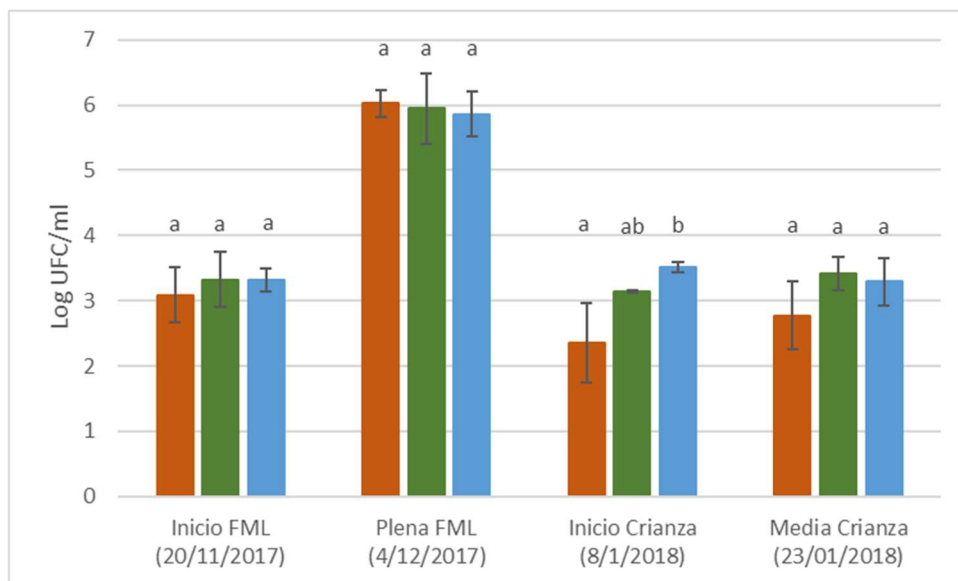
Si se comparan los diferentes parámetros mostrados en la tabla 19, entre los vinos T, L y S, el análisis ANOVA muestra que no hay diferencias estadísticamente significativas. Esto se puede explicar porque todos los vinos (T, S y L) provenían de un único depósito de vino ensamblado. En estos parámetros fisicoquímicos, el tipo de BAL que ha realizado la FML, no ha tenido efecto.

### Análisis Microbiológico

Se realizó la siembra en placas de las diferentes muestras y diluciones descritas en el apartado de materiales y métodos. Se realizó el recuento de colonias y el procesamiento de los datos para obtener los valores medios y las desviaciones estándar de las unidades formadoras de colonias (UFC) correspondientes para cada muestra y se realizaron tinciones Gram (Sanz, S. 2011), para comprobar que se trataban de bacterias lácticas, siendo el resultado de la tinción, Gram + (Ribéreau-Gayon et al., 2003).

Las UFC/mL, en unidades logarítmicas que se obtuvieron y el resultado del análisis de varianzas ANOVA, se muestran en la figura siguiente:

**Figura 2: Poblaciones de bacterias lácticas durante la FML y crianza de los vinos elaborados.**



Población bacteriana expresada como Log UFC/ml. El color marrón representa al vino T de fermentación espontánea, el color verde al vino L con inóculo comercial y el color azul, al vino S con inóculo comercial. Cada valor corresponde a la media aritmética y la desviación estándar de los triplicados de las muestras de vino. Letras distintas sobre los histogramas indican diferencias estadísticamente significativas entre los valores en el análisis ANOVA.

Es importante señalar que, en las muestras tomadas a final de la FML, la población fue 0 UFC/ml (datos no mostrados para ninguno de los 3 tipos de vino). Estos no se sulfitaron durante la FML y el análisis de anhídrido sulfuroso libre fue nulo (tabla 19). Posiblemente se había producido una precipitación de las BAL unidas a las lías finas.

Al final de la crianza, las muestras analizadas dieron un resultado de 0 UFC/ml (datos no mostrados) para ninguno de los 3 tipos de vino. En este caso, los vinos se habían sulfitado 42 días antes y los niveles en el momento del muestreo fueron de 28 mg/l de anhídrido sulfuroso libre (tabla 19). Posiblemente se dieran dos factores para el resultado nulo de recuentos de población bacteriana, uno la presencia de anhídrido sulfuroso libre y otro, como en el caso anterior, que parte de la población de BAL se hallaba en el fondo de la barrica, unida a las lías finas y no llegaron a la muestra tomada.

En relación al análisis de varianzas, se puede observar en la Figura 2 que no existen diferencias significativas en los recuentos bacterianos en los vinos al inicio, ni en plena FML, ni en la media crianza de los vinos.

Respecto al inicio de la crianza, se visualiza en la Figura 2 que el vino L con inóculo comercial, no tiene diferencias significativas con el vino T de fermentación espontánea ni con el vino S con inóculo comercial. Es importante señalar que sí existen diferencias significativas en el recuento bacteriano entre el vino T de fermentación espontánea y el vino S con inóculo comercial. Esta diferencia pone de manifiesto que el inóculo S tuvo éxito en su implantación y que una vez finalizada la FML, en la muestra tomada al

inicio de la crianza todavía quedaba una población significativa de bacterias viables y cultivables, por encima del valor obtenido en el vino sin inoculaciones y cuya FML fue realizada por la microbiota endógena de los vinos.

Es también importante señalar que tal y como se recoge en la bibliografía, se han obtenido en todos los vinos estudiados poblaciones de  $10^6$  UFC/mL en plena FML (Ribéreau-Gayon et al., 2003).

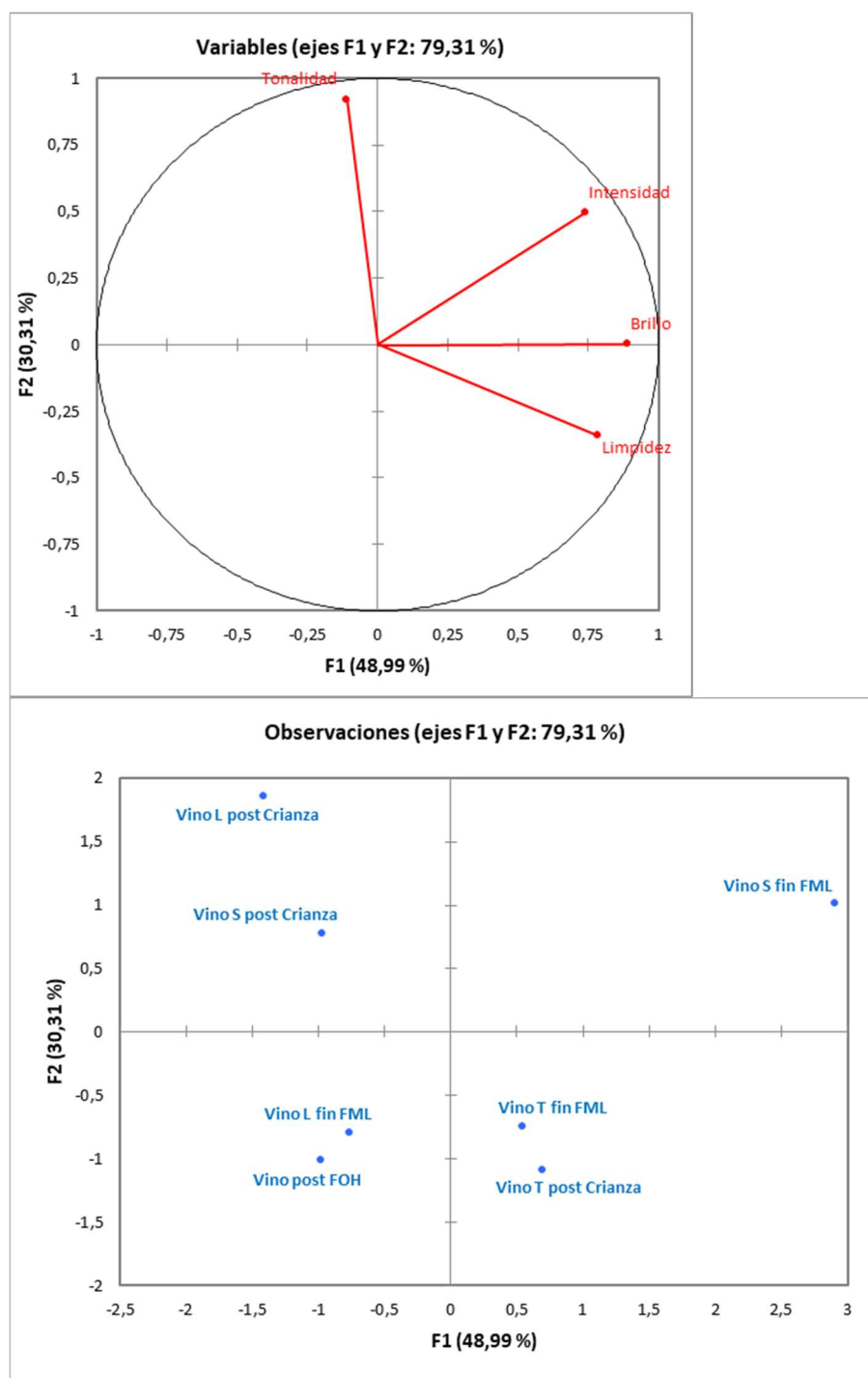


## Análisis Sensorial

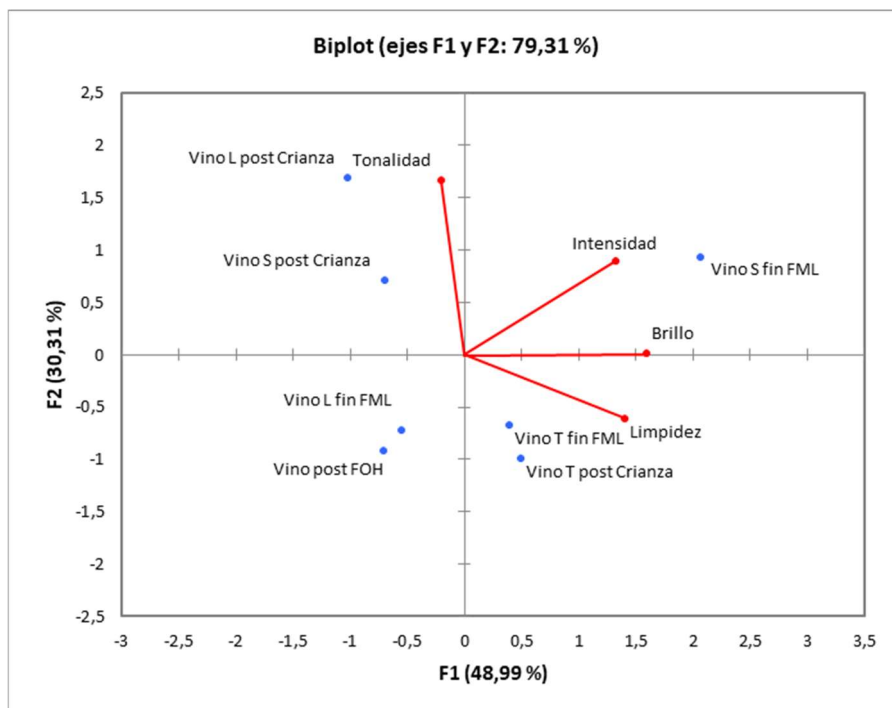
De los datos obtenidos en la sesión de análisis sensorial, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) de la fase visual, olfativa y gustativa + retronasal.

### Fase Visual

**Figura 3.1: ACP fase visual.**



**Figura 3.2: Vinos y atributos ACP fase visual.**



Las figuras 3.1 y 3.2 del análisis de componentes principales muestran que los atributos elegidos en la fase visual consiguen explicar un 79.3% de la varianza, en base a las diferencias encontradas en los vinos, en los primeros ejes factoriales, F1 y F2. También muestran que los atributos de la fase visual tienen la misma importancia, dado que los vectores tienen la misma longitud. Los vinos T (fin FML y crianza), testigos de fermentación espontánea, quedan agrupados claramente lejos del resto en cuanto a la fase visual. Estos vinos T sobresalen por el carácter de su limpidez.

El efecto bacteria es muy potente, ya que el vino S al final de la FML, que se encuentra en la parte positiva del eje F1 (primer cuadrante), es más potente en cuanto a intensidad y brillo que el vino L al final de la FML, que se encuentra en el cuadrante opuesto (cuadrante 3º). Este resultado concuerda con el resultado de que el vino S realizó una FML más rápida y que las BAL mantenían su población más elevada al inicio de la crianza en este vino inoculado.

Se observa que al final de la crianza en barrica, los vinos con inóculos comerciales se ven unificados en cuanto a los parámetros visuales y destacan por su tonalidad en la gama de los violáceos y aspecto juvenil (2º cuadrante) y ambos se diferencian claramente del vino T de FML espontánea (situado en el 4º cuadrante).

## Fase Olfativa

Figura 4.1: ACP fase olfativa.

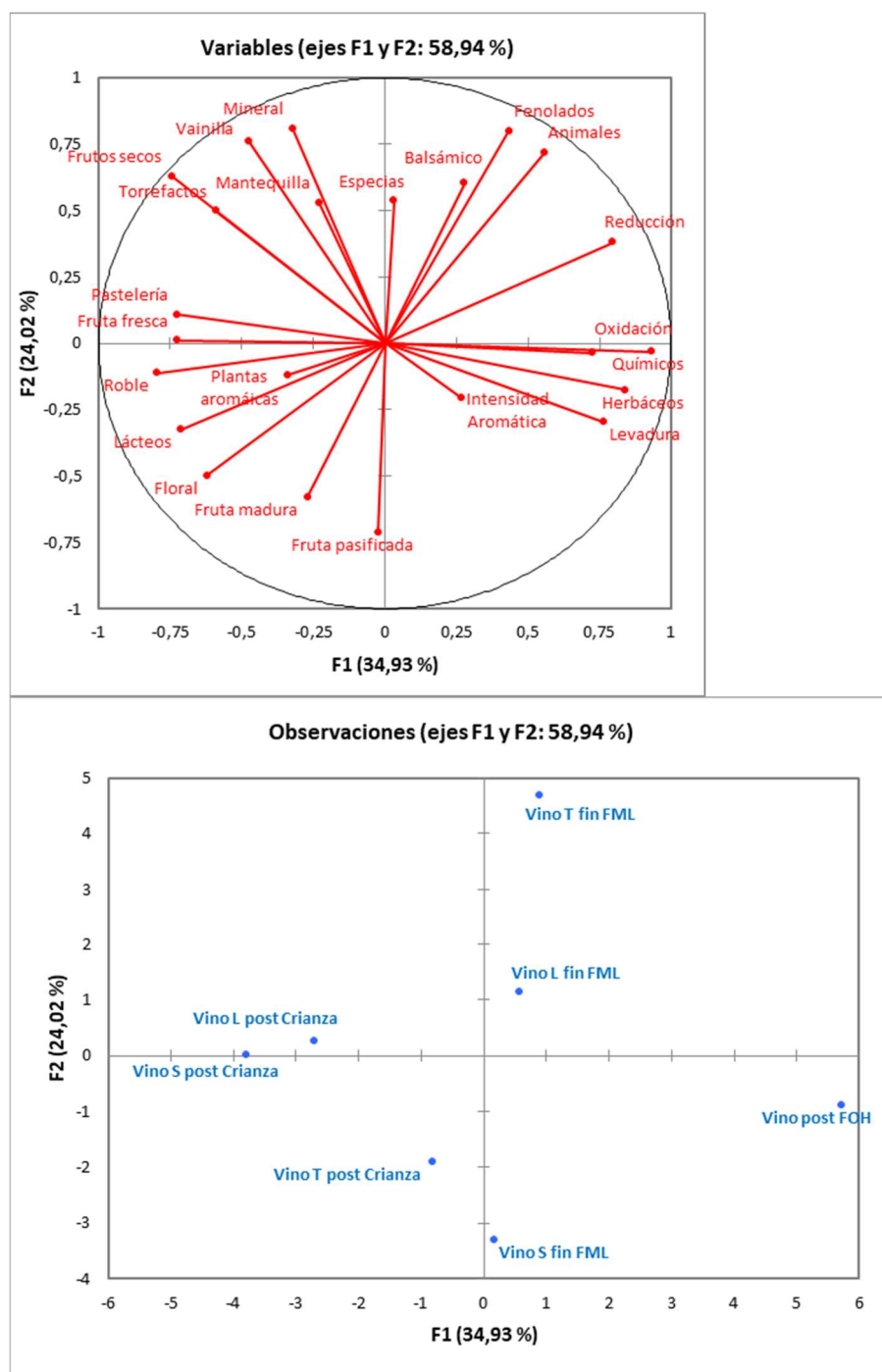
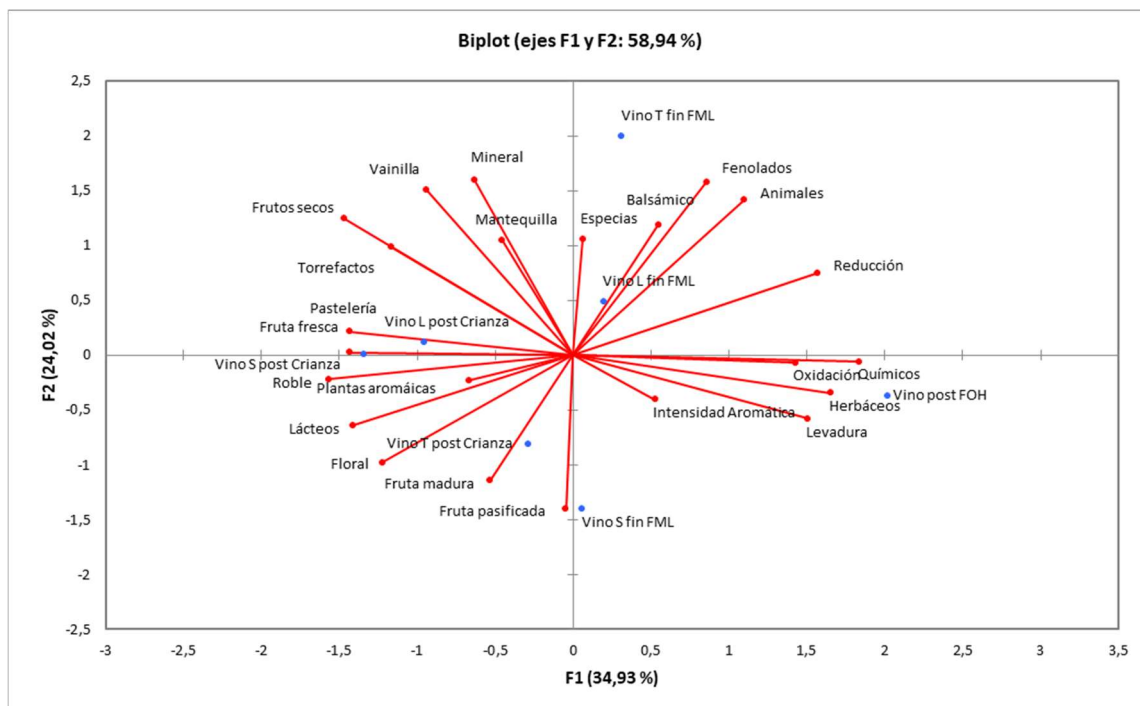


Figura 4.2: Vinos y atributos ACP fase olfativa.



El análisis de los componentes principales mostrado en las figuras 4.1 y 4.2 determina estadísticamente que los atributos elegidos en la fase olfativa consiguen explicar un 58.94% de la varianza, en base a las diferencias encontradas en los vinos, en los primeros ejes factoriales, F1 y F2. Se observa que el factor crianza unifica aromáticamente (parte negativa del eje F1) a los tres tipos de vinos. En este caso, todos los vinos con crianza se acercan a los aromas típicos de la crianza en barrica de roble y conservan una gran carga de aromas fruta fresca, florales y fruta madura.

La FML es importante a la hora de marcar diferencias en los vinos, dependiendo del tipo bacteria láctica que la conduce. En este caso el vino T al final de la FML tiene aromas más balsámicos, fenolados y animales. El vino L al final de la FML, aromas más balsámicos y especiados. El vino S al final de la FML tiene más aromas a fruta madura y pasificada.

## Fase Gustativa + Retronasal

**Figura 5.1: ACP fase gustativa + retronasal.**

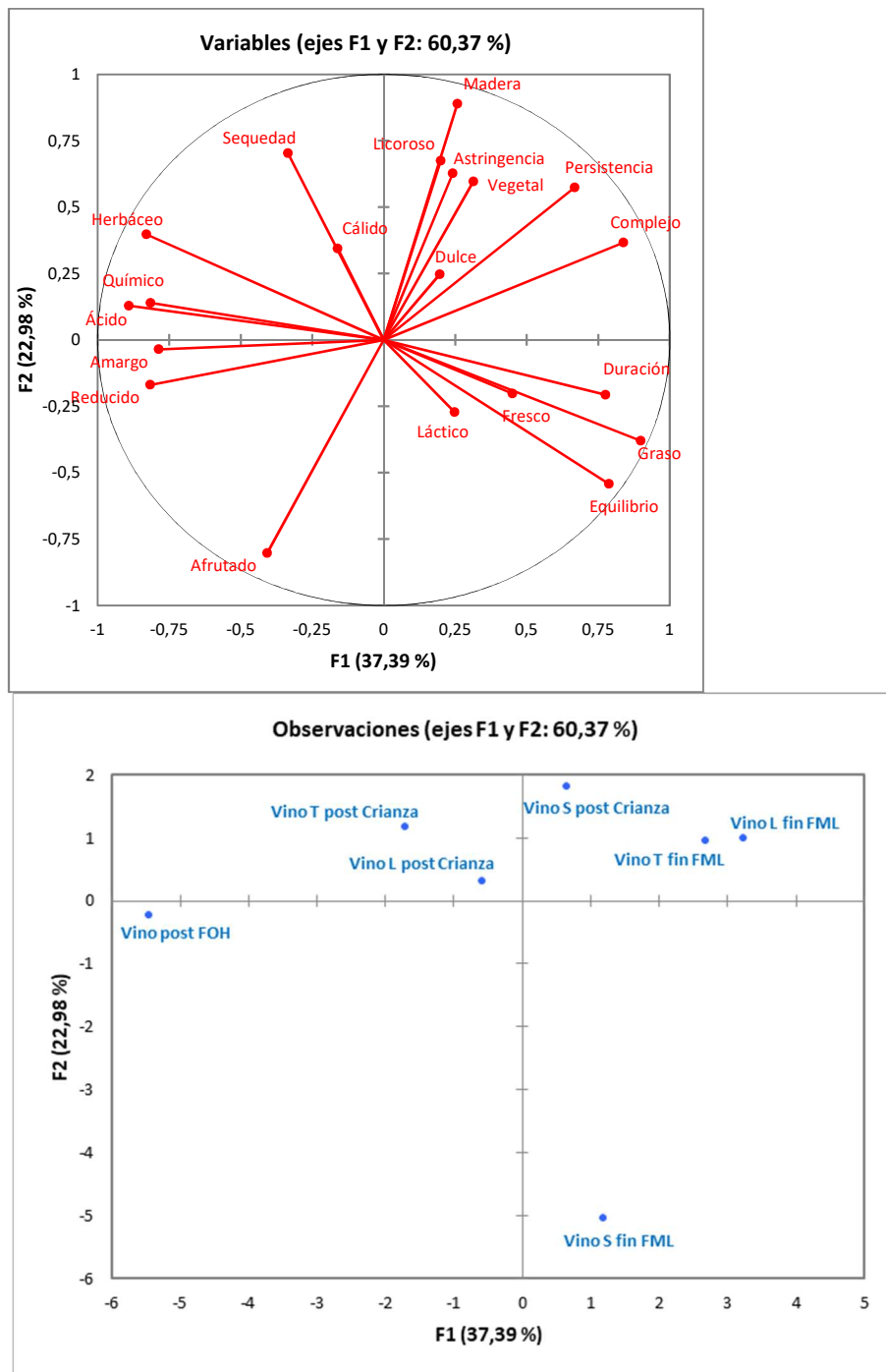
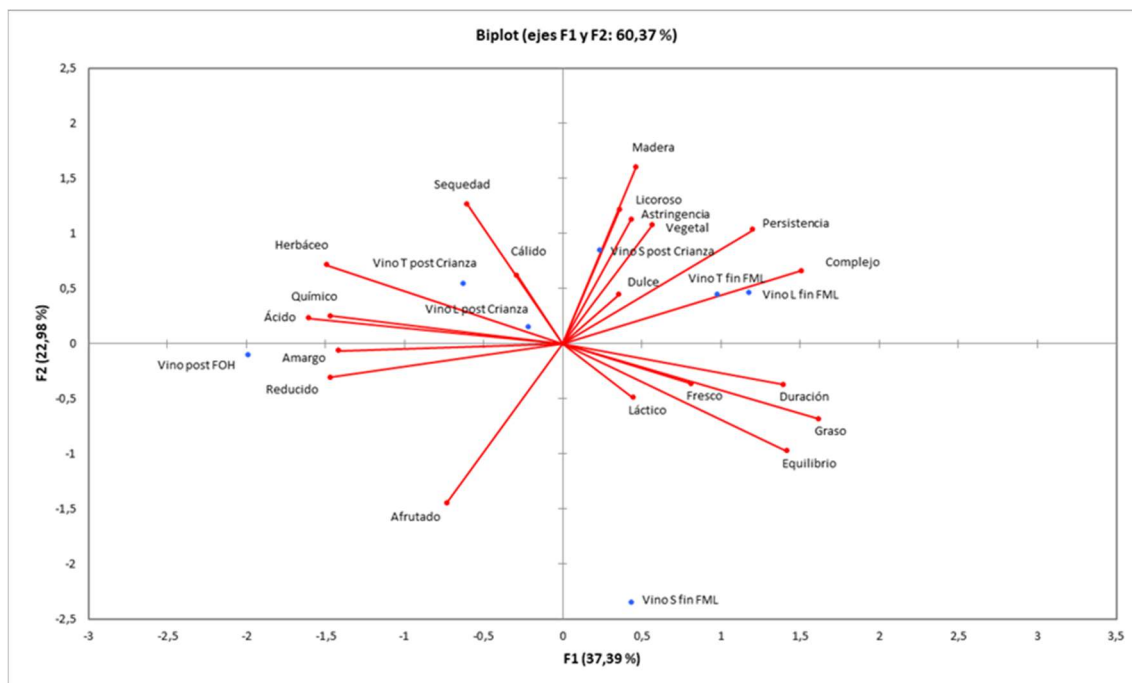


Figura 5.2: Vinos y atributos ACP fase gustativa y retronasal.



Las figuras 5.1 y 5.2 del análisis de componentes principales muestran que los atributos elegidos en la fase gustativa junto con la retronasal consiguen explicar un 60.37% de la varianza, en base a las diferencias encontradas en los vinos, en los primeros ejes factoriales, F1 y F2. Se observa que hay dos vinos muy diferentes, el vino inicial, nada más finalizar la FOH, que es el más ácido, más amargo y más herbáceo, lo cual era de esperar al no haber realizado la FML. El otro vino más aislado es el vino S al final de la FML, caracterizado por sus atributos lácteo, fresco y con un buen equilibrio gustativo. El vino T testigo al final de la FML y el vino L al final de la FML se parecen mucho y son los que tienen mayor complejidad y persistencia en la fase retronasal. Mientras que la crianza homogeniza de nuevo, igual que en la fase anterior olfativa, los vinos, que presentan una mayor sequedad y astringencia (posiblemente por los taninos de la madera) con una retronasal de aromas de madera, licoroso y sensaciones cálidas (Hernández-Orte, et al., 2009).

## Conclusiones

1. Los vinos tintos elaborados en este TFG con adición de los cultivos iniciadores vieron favorecido el desarrollo de su FML, y los vinos testigo con esta fermentación espontánea llevada a cabo por su propia microbiota endógena, presentaron un descenso más lento de su contenido en ácido málico.
2. Las poblaciones de BAL en plena FML alcanzaron valores semejantes en los tres tipos de vinos elaborados: T (testigos con FML espontánea), L (con FML inducida con Lactoenos® B7 Direct) y S (con FML inducida con Uvaferm Alpha®); sin embargo, los vinos inoculados S finalizaron la FML 6 días antes que los otros, y al inicio de la crianza en barrica mantenían una población de BAL significativamente superior a la de los vinos testigo.
3. El análisis sensorial de los vinos elaborados puso de manifiesto que en la fase visual los vinos con las FML inducidas se diferenciaban entre si en la intensidad y brillo al final de su FML, si bien esas diferencias desaparecían con la crianza, y ambos se diferenciaron de los vinos con FML espontánea por su tonalidad y aspecto juvenil.
4. En la fase olfativa, con la crianza se unificaron aromáticamente los tres tipos de vino elaborados, y los vinos adquirieron aromas típicos de la crianza en barrica de roble, con una gran carga de aromas a fruta fresca, florales y fruta madura.
5. En la fase gustativa y retronasal los vinos con FML inducida se diferenciaban al final de su FML, e igual que en la fase olfativa, la crianza unificó el carácter de los vinos aportando aromas de madera, licoroso y sensaciones cálidas.
6. Los vinos elaborados presentaron en todos los casos las características deseadas de calidad y carácter del vino tinto Tempranillo de la D.O.Ca. Rioja.

## Bibliografía

Aleixandre, J.L., Álvarez, I. (2011). *Tecnología enológica*. Editorial Síntesis.

Anexo técnico, acreditación nº 756/LE1606 (2015). *Laboratorio de Enología del Servicio de Viticultura y Enología de la Diputación Foral de Álava*. Entidad Nacional de Acreditación (ENAC).

Consejo Regulador de la D.O.Ca. Rioja (2018). *Variedades de vid*.

Delanoë, D., Maillard, C., Maisondieu, D. (2015). *El vino: Del análisis a la elaboración*. Editorial Acirbia, SA.

du Toit, M., Engelbrecht, L., Lerm, E., Krieger-Weber, S. (2011). *Lactobacillus: The Next Generation of Malolactic Fermentation Starter Cultures-an Overview*. Food and Bioprocess Technology 4(6), pp. 876-906

Hernández-Orte, P., Lapeña, A.C., Escudero, A., Astrain, J., Baron, C., Pardo, I., Polo, L., Ferrer, S., Cacho, J., Ferreira, V. (2009). *Effect of micro-oxygenation on the evolution of aromatic compounds in wines: Malolactic fermentation and ageing in wood*. LWT - Food Science and Technology Volume 42, Issue 1, 2009, Pages 391-401

Hernández-Orte, P., Franco, E., González Huerta, C., Martínez García, J., Cabellos, M., Suberviola, J., Orriols, I., Cacho, J. (2014). *Criteria to discriminate between wines aged in oak barrels and macerated with oak fragments*. Food Research International, 57: 234-241.

Hidalgo Togores, J. (2011). *Tratado de Enología, vol. 2 (2ª edición)*. Ediciones Mundi Prensa.

López, I., López, R., Santamaría, P., Torres, C. and Ruiz-Larrea, F. (2008) *Performance of malolactic fermentation by inoculation of selected Lactobacillus plantarum and Oenococcus oeni strains isolated from Rioja red wines*. Vitis 47 (2): 123-129.

Moreno Vigara, Juan J., Peinado Amores, Rafael A. (2010). *Química Enológica*. Ediciones Mundi Prensa

Pozo-Bayón, M. A., G-Alegría, E., Polo, M. C., Tenorio, C., Martín-Álvarez, P. J., Calvo de la Banda, M. T., Ruiz-Larrea, F., Moreno-Arribas, M. V. (2005). *Wine Volatile and Amino Acid Composition after Malolactic Fermentation: Effect of Oenococcus oeni and Lactobacillus plantarum Starter Cultures*. J. Agric. Food Chem. 53, 8729-8735.

Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., & Lonvaud, A. (2003). In P. Ribéreau-Gayon (Ed.), *Tratado de Enología, vol. 1. Microbiología del vino y vinificaciones*. Ediciones Mundi Prensa.

Sanz Cervera, Susana A. (2011). *Prácticas de Microbiología (2ª edición)*. Universidad de La Rioja, servicio de publicaciones.